牙用粘固剂对人牙本质的脱矿作用

Deminerazing effect of dental cements on human dentin

Yasushi Shimada, Yasuyo Kondo, Shigehisa Unokoshi, Junji Tagami, Joseph m. Antonucci

原载 Quintessence Int 1999; 30: 267 – 273. (英文)

董艳梅 译　高学军 校

摘要　**目的**：为了验证这一假说：牙本质表面可由于放置 4 种化学固化粘固剂（磷酸锌粘固剂、粘固型玻璃离子粘固剂、修复型玻璃离子粘固剂和聚羧酸锌粘固剂）而脱矿。

材料和方法：60 个经粘固处理的牙本质片用氩 – 离子蚀刻技术处理后，在扫描电子显微镜和同焦激光扫描显微镜下观察。为了确定粘固剂的表面作用，30 个牙本质表面用新调制的粘固剂处理 60 秒。牙片用水流和超声波洗涤后在扫描电镜下观察。

结果：观察显示，在牙本质和粘固剂形成的界面牙本质脱矿不完全，而且沿界面脱矿的深度和范围不均匀。磷酸锌粘固剂引起的脱矿最严重，其次为粘固型玻璃离子粘固剂。修复型玻璃离子粘固剂和聚羧酸锌粘固剂的脱矿程度较少。同焦激光扫描显微镜大体印证了扫描电镜的观察，并揭示大多数样本粘固剂与牙本质表面结合紧密。

结论：含酸粘固剂有自酸蚀性质，可有效地、不同程度地去除玷污层，并促进其与牙本质表面结合紧密。

牙科粘固剂通常由液体和粉剂组成，通过酸碱反应硬化。混合初期的 pH 值低，在硬固反应过程中，逐渐升至接近中性水平。因为粘固剂初始时是酸性的，也许会刺激牙髓，并使与粘固剂相接触的牙齿表面脱矿。Abe 等报道，磷酸锌粘固剂糊剂对牛牙本质的脱矿作用的严重程度与 65wt% 磷酸水溶液是相似的。

自从玻璃离子粘固剂问世，经过了多次改型，这种粘结性材料现被认为是一个类型的牙科治疗所必须的材料。传统的玻璃离子粘固剂的粘结作用是通过一系列的中和反应进行的，多元酸和钙铝离子从反应性玻璃材料中滤出，形成多盐的基质。许多研究者已经报告了玻璃离子粘固剂的生物作用。尽管普遍认为修复性玻璃离子粘固剂是生物相容性的，但粘固性玻璃离子粘固剂用于粘冠时会引起轻度的牙髓刺激。粘固剂液呈酸性，可能是引起许多术后并发症的原因。

以往曾用各种技术，包括扫描电镜（SEM）、透射电子显微镜和同焦激光显微镜观察牙齿 – 修复体界面。要想清楚地观察通常结构模糊的各种粘固剂 – 牙本质界面存在一些根本性的困难，如多数粘固剂抗折断性低，粘结强度弱。有研究报告氩离子蚀刻技术有助于在 SEM 下观察牙本质 – 修复体界面的形态变化。另外，同焦激光扫描显微镜（CLSM）已经广泛的应用在生物学领域和非侵入性、非破坏性器官组织活体研究，并且在牙科研究中已有许多应用。用 CLSM 检查样本不需要特

译者：北京医科大学口腔医学院
北京海淀区白石桥路 38 号　100081

殊制备，不会出现由于脱水产生的变形，这些在 SEM 样本制作过程中均会产生。

本研究是为了验证牙科粘固剂对人牙本质有脱矿作用，并且不同类型的粘固剂脱矿程度不同这一假说。在 CLSM 下观察粘固剂－牙本质界面，并用氩离子蚀刻技术处理粘固剂－牙本质界面后在 SEM 下观察。另外，将牙科粘固剂置于牙本质表面 60 秒，用水冲除，在 SEM 下观察。

材料和方法

本研究使用 6 种商品化的粘固剂〔2 种磷酸锌粘固剂(ZPC)、2 种粘固型玻璃离子粘固剂（LGIC）、1 种修复型玻璃离子粘固剂（RGIC）和 1 种聚羧酸锌粘固剂(ZPPC)〕（表 1）。各种材料调制时的温度为 23℃ ± 1℃，相对湿度为 50% ±5%；调制方法按照产品说明书进行。

研究所用牙齿为拔除的无龋人磨牙，贮存于 4℃的保存液中。保存液为 1L 生理盐水溶液中溶有 2g 麝香草酚（Hikari, Hikari Pharmaceutical）。用钻石切片刀（Leitz1600 切片刀，Lica Instruments）在水流的冷却下沿垂直牙长轴的方向制备 95 个牙本质切片。

粘固剂－牙本质界面的观察

从 95 个牙片中随机挑选 60 个，用 SEM 和 CLSM 观察粘固剂－牙本质界面。将其随机分为 6 组，每组 10 个牙片，每组使用不同的粘固剂。将新调制的粘固剂放在两个牙片之间形成牙本质－粘固剂－牙本质三明治，不要破坏粘固剂粘结区。每组有 5 个样本，可提供 10 个粘结界面(n = 10)。

粘固 24 小时后，用涡轮金刚砂钻(No. 201, Shofu)将样本垂直粘结面切开。而后分别将两个切面包埋在环氧树脂中，用系列碳化硅水砂纸及最终粒度为 0. 25μm 金刚砂糊抛光。

抛光后样本的一面用氩离子光束(EIS－1E, Elionix)蚀刻 10 分钟。条件为 1KV 的加速电压，0. 2mA/cm ^{2} 的离子流密度，离子束垂直于抛光牙面。喷涂金后在 SEM(JXA840, JEOL)下观察。另一面则直接放在 CLSM (1LM21H/W, Lasertec)下观察。

表 1 研究所用牙科粘固剂

材料	类型*	制造商	匹号
Suer 粘固剂	ZPC	Shof	P: 079330 L: 39413
Elite 粘固剂	ZP	CGC	P: 130121 L: 030631
Fuji Ⅰ	LGIC	GC	P: 250532 L: 240533
Ketac－Cem	LGIC	ESPE	P: 0282 L: 0040
Fuji 玻璃离子Ⅱ型	RGIC	GC	P: 300771 L: 150601
Hy－Bond Carbo	ZPCC	shofu	P: 129110 L: 12907

* ZPC = 磷酸锌水门汀； LGIC = 粘固型玻璃离子水门汀；
RGIC = 修复型玻璃离子水门汀； ZPCC = 聚羧酸锌水门汀

在 SEM 和 CLSM 下，测得每个样本中变化最深之处为样本的脱矿层深度。结果用单变量参数分析和 Duncan 多重区域检验进行统计学分析。

牙本质表面的观察

将其余 35 个牙本质片分为 7 组，每组 5 个样本（n = 5)，其中一组为对照组。实验组用新调制的粘固剂(见表 1)置于牙本质表面 60 秒。而后，先用水冲洗，再用超声波清洗 60 秒，以去除牙本质表面的粘固剂。对照组则用等渗盐水处理牙本质表面 60 秒，不需水及超声清洗。

将实验组及对照组的样本置于系列递增浓度的乙醇中脱水，而后遵照厂商的说明，用液态的 CO_2 临界点干燥（JCPD, JEOL)。最后，牙本质表面用金喷涂并在 SEM 下观察。

结果

粘固剂－牙本质界面

用 SEM 观察粘固剂－牙本质界面显示牙本质呈现部分脱矿，沿粘固剂边缘呈非均质形。也就是说脱矿的深度是不均匀的，ZPC 脱矿范围从 0. 0μm 到 6. 0 μm，

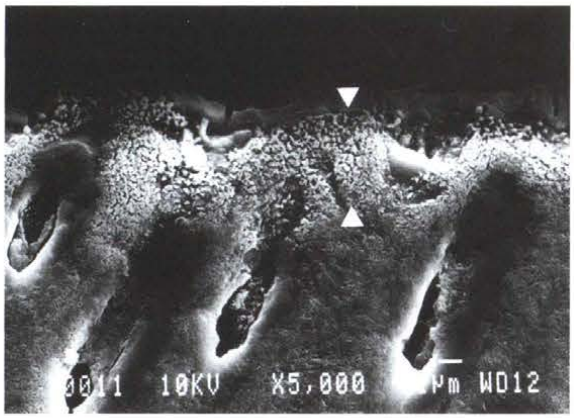

图 1 Super 粘固剂 - 牙本质界面的扫描电镜图。牙本质的脱矿深度大约 5μm(箭头之间)。牙本质标本上方的磷酸锌粘固剂多数已经断裂

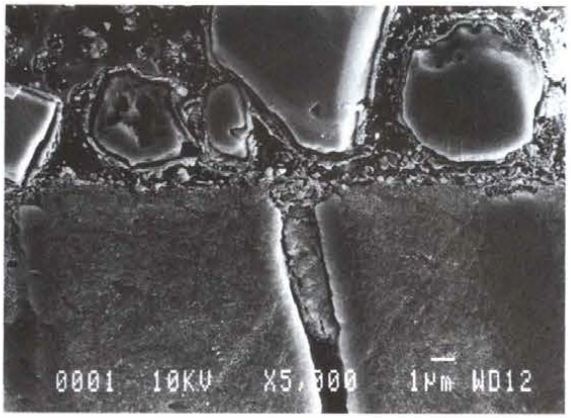

图 2 Elite 粘固剂 - 牙本质界面的扫描电镜图。牙本质的脱矿区不如 Super 粘固剂清晰(见图 1)

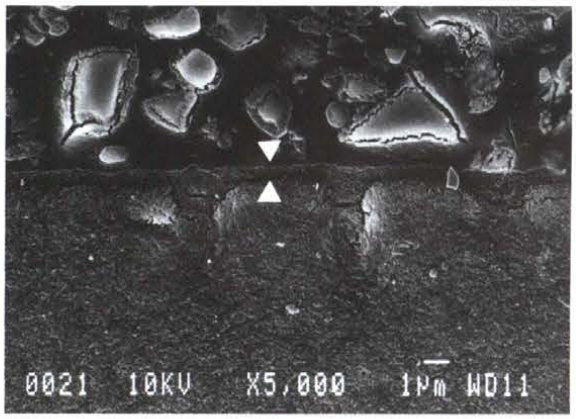

图 3 Ketac - Cem 粘固剂 - 牙本质界面的扫描电镜图。牙本质的脱矿深度大约 1μm(箭头之间)

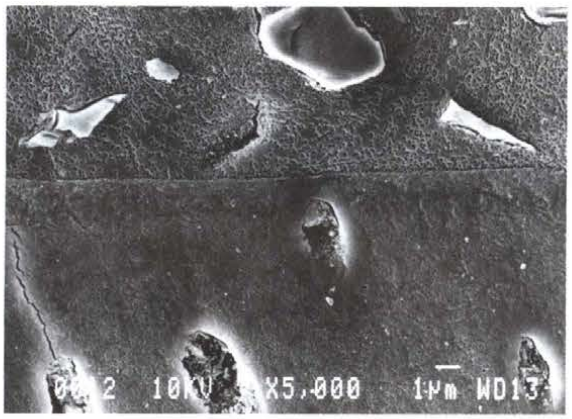

图 4 Hy - Bond Carbo 粘固剂 - 牙本质界面的扫描电镜图。牙本质的脱矿区带不如 Ketac - Cem 清晰(见图 3)

表 2 牙本质脱矿深度(μm)

材料	用 SEM 观察 均值 ± SD (min, max)	CLSM 观察 均值 ± SD (min, max)
Suer 粘固剂	2.00 ± 1.94(0.0,5.0)[a]	2.00 ± 1.94(0.0,5.0)[a]
Elite 粘固剂	2.00 ± 2.11(0.0,6.0)[a]	2.00 ± 1.94(0.0,5.0)[a]
Fuji Ⅰ	0.50 ± 0.47(0.0,1.5)[a,b]	0.40 ± 0.32(0.0,1.0)[a,b]
Ketac - Cem	0.75 ± 0.89(0.0,3.0)[a,b]	0.70 ± 0.75(0.0,2.5)[a,b]
Fuji 玻璃离子Ⅱ型	0.10 ± 0.21(0.0,0.5)[b]	0.10 ± 0.21(0.0,0.5)[b]
Hy - Bond Carbo	0.04 ± 0.13(0.0,0.4)[b]	0.04 ± 0.13(0.0,0.4)[b]

SEM = 扫描电镜 ;CLSM = 同焦激光扫描显微镜

(min, max) = 分别为最小值和最大值

各组标有相同的上标字母表示无显著性差异(p> 0.05)

LGIC 从 0.0μm 到 3.0μm, RGIC 从 0.0μm 到 0.5μm, ZPCC 从 0.0μm 到 0.4 μm(表 2 和图 1 - 4)。各组平均深度有显著性差异(one - way ANOVA, $p < 0.01$),并且 ZPCs 与 RGIC 和 ZPCC 的平均值之间有统计学差异(Duncan's multiple range test, $p < 0.05$)。

ZPCs 对牙本质有较严重的脱矿作用,其次为 LGICs;但 LGICs 与其它粘固剂之间的差别无统计学意义(Duncan's multiple range test, $p > 0.05$)。除了 2 个 RGIC 样本和 1 个 ZPCC 的样本显示相同程度的脱矿,RGIC 和 ZPCC 的样本在界面处脱矿的牙本质的范围和深度不清楚。一些 SEM 观察的样本的粘固剂 - 牙本质界面分离或粘固剂断裂。尤其是 ZPC,一半以上用于 SEM 观察的样本可见粘固剂断裂(见图 1)。

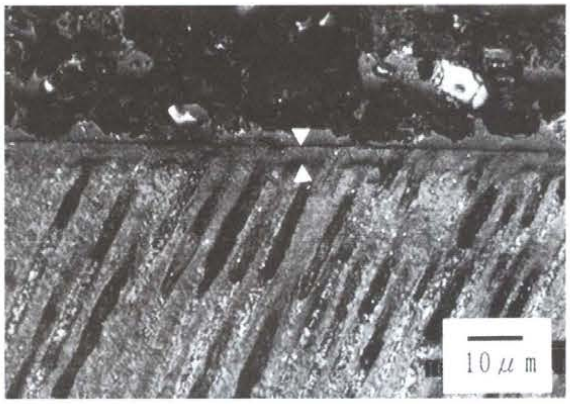

图 5 Super 粘固剂 - 牙本质界面的同焦激光扫描显微镜图。牙本质的脱矿深度大 约 5μm(箭头之间)。牙本质和粘固剂结合紧密

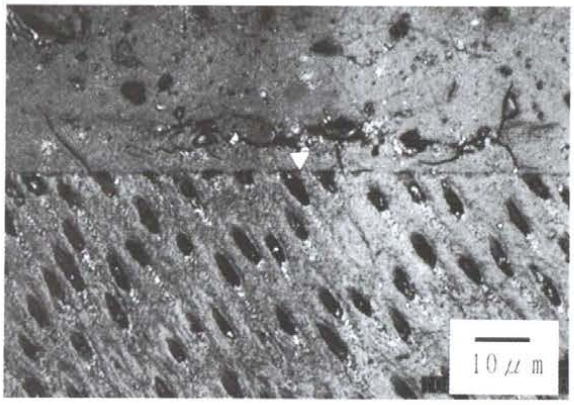

图 6 Fuji 玻璃离子 Ⅱ型同焦激光扫描显微镜图。无清楚的牙本质脱矿区带。粘固剂和牙本质有极好结合(箭头)

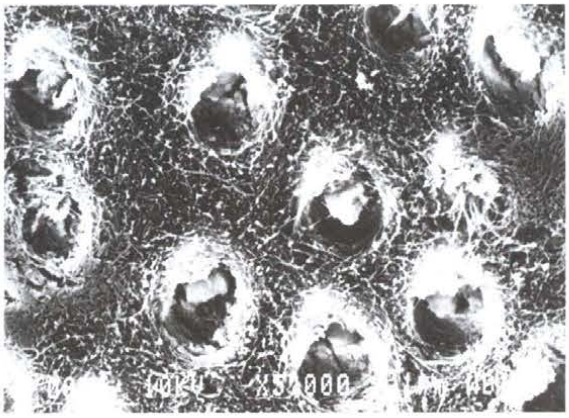

图 7 牙本质表面使用 Elite 粘固剂 60 秒并用水冲后的扫描电镜图。玷污层和玷污栓子的 顶部被去除，可见许多胶原纤维

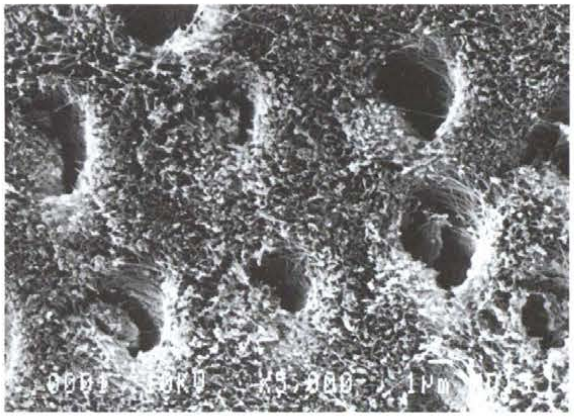

图 8 牙本质表面使用 Ketac - Cem 的扫描电镜图。玷污层和玷污栓子的顶部被去除，显示牙本质表面有纤维纹理

用 CLSM 观察粘固剂下方牙本质的脱矿现象，显示脱矿深度与 SEM 的结果相似(见表 2)。各组脱矿深度的平均值之间有统计学差异 (one - way ANOVA; $p = 0.001$)；ZPCS 与 RGIC 和 ZPCC 的平均值亦有差异 (Duncan's multiple range test, $p < 0.05$)。用 CLSM 可观察到既使是 ZPC 样本，粘固剂 - 牙本质界面结合紧密并且样本破坏微小(图 5, 6)。

牙本质表面

用喷水和超声清洗可完全去除牙本质上的粘固剂，且 SEM 显示牙本质表面有改变。图 7 显示的是牙本质在应用 ZPC60 秒及被水冲洗后的情况。玷污层和玷污栓子的顶端均被去除，在脱矿牙本质基质上可清楚的显示纤维纹理。同样，当牙本质表面应用 LGICs 后也显示了同样的结果(图 8)。当应用 RGIC 和 ZPCC 后，玷污层虽被去除，但多数玷污栓子仍留在小管口内 (图 9)。偶可观察到部分脱矿牙本质表面的纤维纹理。

讨论

文献报告在 SEM 观察前，利用氩离子蚀刻技术有利于揭示一些牙本质粘结系统的树脂 - 牙本质混合层的形态变化。在本研究中使用此技术揭示粘固剂 - 牙本质界面有牙本质脱矿现象。使用 CLSM 也可观察到粘固剂下方的牙本质发生脱矿，且粘固剂与牙本质结合紧密。但是用 SEM 观察界面，一半以上样本的 ZPC - 牙本质在界面处分离，或在粘固剂内折裂。

过去认为酸性粘固剂有自酸蚀作用，因而可通过细微

图 9 牙本质表面使用 Fuji 玻璃离子Ⅱ型后的扫描电镜图。一些玷污层和玷污栓子的顶部被去除，残留的玷污钉突使小管闭塞。仅可见一些胶原纤维

的机械锁接作用与牙本质结合。玻璃离子粘固剂和聚羧酸锌粘固剂与牙本质表面的粘结机制还包括特殊的化学反应。牙本质表面在应用粘固剂 60 秒及用水冲洗后的 SEM 影像也表明牙用粘固剂能够酸蚀牙本质表面。

磷酸锌粘固剂可去除玷污层，并对牙本质表层下有较严重的脱矿作用。与聚羧酸粘固剂不同，一般认为 ZPCs 虽有自酸蚀作用，但与人牙本质不能充分结合。ZPC 的粘结结合力弱，部分是由于粘固剂自身的抗折裂性差，部分是由于其化学性质缺乏特殊的化学反应以促进与牙本质表面的粘结。本研究的 SEM 部分，一半以上的 ZPC 样本由于样本制备过程中的脱水作用引起变形而被破坏。与此相比，CLSM 样本由于不会干燥，就很少被破坏。

LGIC 的脱矿作用较其它多元酸－碱基粘固剂 RGIC 和 ZPCC 更强，这也许是由于 LGIC 硬固时间较长，不同的粉液成分和不同的粉液比例之故。酒石酸是一种重要的添加剂，它控制着 LGIC 的硬固系统，控制着初始的酸碱反应，可使粘固剂保持较长时间的流动性。另外，酒石酸比最初与玻璃填料反应的多元酸酸性强。酸性更强的酒石酸不仅与可滤出离子的玻璃颗粒反应，也与牙本质表面的矿物质反应引起脱矿。ZPCC 中的碱性氧化锌粉与多元酸的反应较玻璃粘固剂的玻璃填料更迅速、更完全，因此使 ZPCC 的 pH 值迅速达到中性。

同样，Fuji 玻璃离子Ⅱ型作为修复性材料，常用较稠的混合物（较高的粉液比），而用于粘固材料时则含液较多。因此，ZPCCs 和 RGICs 被认为对牙本质表面有较轻度的酸蚀作用。Nitta 和 Shono 报告用酸性处理液来处理粘污层可促进 RGIC 对人牙釉质和牙本质的粘结。这些研究表明 RGIC 的自身酸蚀作用较弱，有必要用酸性处理液以达到足够的粘结强度。这些研究支持本研究的发现，Fuji 玻璃离子Ⅱ型对牙本质具有相对温和的酸蚀作用。

本研究只调查了化学固化的粘固剂。对树脂改性的玻璃离子粘固剂，其自酸蚀作用是中度的，这是由于树脂成份的作用以及光照后材料几乎立即就固化。研究者报告为获得最大的粘结强度，在窝洞内填入树脂改性的玻璃离子前，酸处理是十分必要的。

在固化过程中，粘固剂和牙本质表面的矿物质发生离子交换，与树脂－牙本质粘结相比，树脂－牙本质粘结形式的混合层是均匀的，而由粘固剂引起的牙本质脱矿区的深度和范围是不均匀的。其原因之一也许是由于牙本质表面上玷污层的异质性，如厚度、分布和附加成分的程度。如果玷污层厚、酸性的粘固剂就不能去除全部玷污层中的矿物质成份，这是由于当用于牙本质表面时其碱性成份将其中和了。

材料的粘性也是重要因素，因为材料的粘性可限制其穿过玷污层和牙本质表面。若粘固剂的粘性增加，由于限制了酸中质子的充分扩散，去除玷污层比带有粘性处理液的树脂复合系统更加困难。另一原因是由于粘固剂－牙本质界面形成了由来自牙本质和粘固剂的沉淀成份组成的中间层。对所有的粘固剂，其下方的脱矿牙本质可通过粘固剂中的矿物离子的迁移和沉积再矿化（未发表资料），或粘固剂自身进入牙本质的脱矿区。已有研究表明用酸性处理剂处理后，玻璃离子可进入牙本质中。这些因素相互作用使得脱矿牙本质呈现出模糊的形态。

本研究的结果表明，由于自酸蚀作用 ZPC 和 LGIC 可使牙本质脱矿。这一发现与短期的组织病理学研究和临床反应是一致的。但它们的酸蚀作用不均匀，牙本质表面的脱矿不完全。由于牙本质的脱矿是部分的、轻度的，粘固剂微小的酸蚀刺激，不会与长期的牙髓敏感有关。

本文的实验均在离体牙上进行，无动态的生理作用。由于牙髓液中还有矿物质和蛋白成分，来自生活牙髓的的组织液可使牙本质表面润湿，并且干扰牙科粘固剂的固化过程，降低其酸蚀作用。因此这些假说还必须经过体内研究证实。

结论

1. 本研究结果显示酸性粘固剂，当与牙本质接触后有自酸蚀作用，这有助于促进界面的粘结以及与洞壁的结合。

2. 用扫描电镜和同焦激光扫描显微镜观察粘固剂－牙本质界面证明，牙本质表面用各种酸基粘固剂处理后，牙本质呈现的脱矿是不均质的和不完全的。磷酸锌水门汀脱矿范围从 0.0μm 到 6.0μm，粘固型玻璃离子水门汀从 0.0μm 到 3.0μm，修复型玻璃离子水门汀从 0.0μm 到 0.5μm，聚羧酸锌水门汀从 0.0μm 到 0.4μm。

3. 扫描电镜也揭示了牙本质－粘固剂的自酸蚀作用。

4. 用同焦激光扫描显微镜观察显示，所有的粘固剂的牙本质－粘固剂界面 结合紧密。用 SEM 不能很好地显示界面的结合情况，如一半以上的磷酸锌粘固剂的样本显示界面处分离或粘固剂内破裂。

5. 从临床方面讲，酸基粘固剂较轻的自酸蚀作用很少产生牙髓刺激和长期的牙髓敏感。

感谢 我们非常感谢 Ms Kohori (Lasertec Co of Tokyo) 提供技术帮助和使用 CLSM(1LM21H/W)。
本研究由东京医学和齿科大学以及国家标准和技术学会 (Gaithersburg, Maryland) 支持。

否认 本文中使用一些商业材料和设备来说明实验过程。这并不表明国家标准的和技术学会推荐或保证这些材料和设备是最好的。本文的观点和主张是作者个人的见解，而不代表美国政府的任何部门。